24052 W 27
Lane Medical Library

ÜBER

die Frage nach der Existenz eines ungeformten Harnstoff zersetzenden Fermentes.

INAUGURAL-DISSERTATION

VERFASST UND DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

KÖNIGL. JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU WÜRZBURG

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDIZIN, CHIRURGIE UND GEBURTSHILFE

VORGELEGT VON

CLEMENS GUDDEN

AUS WERNECK.

WÜRZBURG.

KÖNIGL. UNIVERSITÄTSDRUCKEREI VON H. STÜRTZ.

1887.

REFERENT:

Herr Professor Dr. Leube.

Die Umsetzung des Harnstoffes in kohlensaures Ammonium hat schon in früher Zeit mannigfache und verschiedene Erklärung gefunden; von diesen nimmt die Liebig'sche das meiste Interesse hier [1]) in Anspruch, da neuere Untersuchungen auf sie zurückkommen und sich derselben anschliessen, obwohl die dazwischen liegende Zeit uns die Pasteur'schen Entdeckungen gebracht und die Gährungserscheinungen in ihrem eigentlichen Wesen erklärt hat.

Liebig nahm an und mit ihm seine Zeit, dass die Umsetzung des Harnstoffes im Urin das Produkt eines Zusammenwirkens des Schleimes der Blase mit dem Sauerstoff der Luft sei, mit anderen Worten, dass die Umsetzung von einem Ferment abhängig sei, das bei der fauligen Zersetzung des Schleimes sich bilde, so dass die dabei entwickelte Molekularbewegung sich auf den Harnstoff übertrage, diesen in Gährung versetze und dadurch zum Zerfall bringe.

Pasteur dagegen fand im Jahre 1860 das Agens dieser Umsetzung in der Lebensthätigkeit von Mikro-

[1]) Eine übersichtliche Darstellung der übrigen Ansichten und Untersuchungen mit Literaturangabe, Leube, Virchow's Archiv, 100. Band.

organismen, wenigstens ist er es gewesen, der den wissenschaftlichen Nachweis darüber geführt hat. Niemals vermisste er im zersetzten Urin, ausser- sowohl wie innerhalb der Blase dieses organisierte Ferment. Pasteur schreibt selbst über diese Thatsache[1]: „Gelegentlich einer Notiz unseres Kollegen Gosselin etc., Sitzung vom 5. I. 1874 der Akademie, machte ich die Bemerkung, man müsse, da der normale Urin nie nach seinem Austritt aus der Blase, ausser unter dem Einfluss eines besonderen organisirten Ferments, ammoniakalisch wird, nachsehen ob die Sache nicht ebenso in der Blase verläuft, mit anderen Worten, ob gewisse Urine nicht desswegen ammoniakalisch seien, weil das kleine Ferment des Harnstoffes vorhanden ist, dessen Keime auf irgend einem Wege von aussen in das Innere der Blase eingedrungen; ich machte selbst diese Versuche und sah meine Vorhersage bestätigt. Gosselin und Robin kamen zu demselben Resultat; es steht demnach fest, dass, wenn ein Kranker ammoniakalischen Urin abgiebt, das kleine organisierte Ferment in der Blase vorhanden ist, während man im gesunden Urin es niemals findet."

Allgemein war man der Ansicht Pasteur's gefolgt, hatte praktische Schlussfolgerungen aus ihr gezogen, wie jener selbst es that, mit Bezug auf die Therapie, wenn er schreibt: „Betreffs der Anwendung auf die Therapie müssen die Ärzte und Chirurgen mehr als je von der Notwendigkeit überzeugt sein, dass die Einführung der Keime des organisirten Ferments des ammoniakalischen Urins von aussen in das Innere des Körpers verhindert werde und besonders der Entwickelung dieser

[1]) Comptes rendus.

Keime, nachdem sie in die Blase eingedrungen sind, entgegen gearbeitet werde; seltsamer Weise eignet sich die Karbolsäure fast gar nicht, das organisierte Ferment zu bekämpfen, aber wir lernten in der Borsäure ein Mittel kennen, welches trefflich in diesem Sinne wirkt, dabei die Schleimhäute nicht reizt."

Nun erschienen die Arbeiten von Musculus. Es gelang diesem, aus ammoniakalisch zersetztem schleimigen Urin ein Ferment darzustellen, welches den Harnstoff umsetzt. Über die Art der Darstellung des Ferments macht Musculus folgende Angaben: „Dieser Urin (das ist während einer Cystitis ausgeschiedener schleimiger und ammoniakalisch zersetzter Urin) kann nicht filtriert werden, denn die schleimigen Substanzen bilden binnen kurzer Zeit eine undurchgängige Masse, welche alle Poren des Papiers verstopft; aber wenn man konzentrierten Alkohol dazu giebt, koaguliert der Schleim zu einer fibrinähnlichen Masse, welche man leicht von der Flüssigkeit trennen kann. Dieser Schleim enthält das wahre Ferment. Um es zu erhalten, trocknet man denselben bei gelinder Temperatur und pulverisiert ihn[1]). Das Resultat fasst Musculus selbst in die Worte: „Man muss also, der alten Anschauung folgend, annehmen, dass der Schleim der Blase selbst wie ein Ferment wirkt."

Pasteur erwiderte sofort, nachdem er in Gemeinschaft mit Joubert die Versuche von Musculus nachgemacht hatte: „In Bezug auf die ammoniakalische Gährung führt uns die Veröffentlichung von Musculus genau auf den Standpunkt der Wissenschaft bei Beginn meiner Untersuchung, das heisst auf die Theorie vor 20 Jahren."

[1]) Über die näheren Angaben: Comptes rendus 1876.

Die Untersuchungen selbst beleuchtend, sagt Pasteur: „Die Hauptsache der Bemerkungen von Musculus ist vollständig richtig; es existiert ein lösliches Ferment, das imstande ist, den Harnstoff in kohlensaures Ammonium umzusetzen. Aber auch die früher von mir und von van Tieghem gemachten Beobachtungen bleiben zu Recht bestehen.“ „Wie kann man nun,“ so fährt er fort, „diese Thatsachen mit dem unbestreitbaren und neuen von Musculus entdeckten Faktum vereinbaren? Folgendermassen: das lösliche Ferment des Musculus ist hervorgebracht durch das kleine organisierte Ferment des Harnstoffes.“ Und an einer anderen Stelle: „Das lösliche Ferment und das organisierte haben dieselbe Wirkung, weil das lösliche Ferment die Existenz des organisierten voraussetzt.“ Und endlich an einer dritten Stelle: „Ich habe bewiesen,

1. dass das Agens ein mikroskopischer Organismus ist;
2. dass dieser Organismus meist spontan entsteht, sei es auf direktem oder indirektem Wege.“

Das Gespenst des löslichen Ferments, das sich aus dem Schleim der Blase im Verein mit dem Sauerstoff der Luft bilden sollte (n. Musculus), musste zwar den Arbeiten und Ausführungen Pasteurs weichen, nichtsdestoweniger blieb die von diesem bestätigte Möglichkeit der Trennung und selbständigen Wirkung des löslichen ammoniakalischen Ferments bestehen.

Die Wichtigkeit dieser Thatsache für die Frage der Harnstoffzersetzung an sich und für die Pilz- und Fermentwirkung im allgemeinen leuchtet sofort ein. Betont wird dieselbe ausdrücklich von Leube in der oben schon citierten Abhandlung: „Welche Tragweite kommt diesen

Thatsachen und Anschauungen für unsere Vorstellung von der Gährung zu. Wäre doch damit die Wirkungsweise der Fermentorganismen wenigstens insoweit klargestellt, als, soll die Fermentwirkung sich entfalten, erst als Mittelglied in der Wirkung die Bildung eines löslichen ungeformten Fermentstoffes erfolgen müsste.“ [1])

Seine Ausführungen schliesst Leube mit der Mitteilung, dass diese Überlegungen es wenigstens zum Teil waren, welche ihn bestimmten, auf die Frage der Bildung eines ungeformten Ferments durch die Thätigkeit der Harnstoff zersetzenden Pilze im Anschluss an die obigen Befunde mit Hilfe des Experimentes einzugehen. „Nachdem es uns gelungen war, (Leube, Virchow's Archiv, Bd. 100) mehrere sicher isolierbare Pilzarten aus zersetztem Urin rein zu züchten und ihre Einwirkung auf Harnstofflösungen nach den von mir[2]) angegebenen Methoden zu studieren, war die Hoffnung gegeben, das fragliche Ferment von den Pilzen ohne Schwierigkeit trennen und seine Bildung näher erforschen zu können.

Die von Musculus angegebene und auch von Joubert und Pasteur benützte Methode der Fermentisolierung konnte nicht befolgt werden, da hierbei Verunreinigungen der fraglichen Fermentflüssigkeit mit (Luft-)

---

[1]) Leube setzt also die Wirkung des organisierten Ferments nicht auf gleiche Stufe mit derjenigen des ungeformten, selbstverständlich in der vorläufigen Annahme der Richtigkeit der Pasteur'schen Resultate. Pasteur dagegen lässt Mikroorganismen und Ferment in demselben Sinne wirken, dabei aber das zweite durch das erstere entstehen. Diese Doppelwirkung fiel Pasteur selbst auf, denn er schreibt an Berthelot: „Es ist dies das erste Beispiel dafür, dass ein organisiertes unabhängiges Ferment zusammenwirkt mit der Funktion eines seiner nicht organisierten Produkte.

[2]) Virchow's Archiv B. 100.

Pilzen, wie leicht zu konstatieren ist, unvermeidlich sind. Dagegen gelingt die Entfernung der Pilze aus einer Harnstofflösung, in welcher sie die Umsetzung des Harnstoffs in kohlensaures Ammon zustande gebracht haben, jedesmal sicher und vollständig (auch kommt eine Beimischung von Pilzen aus der Luft während jener Prozedur nie vor), wenn man die Pilzharnstofflösung durch Thoncylinder unter gewissen Kautelen filtriert. Die ca. 500 ccm haltenden Thoncylinder werden an ihrem obersten glasierten Ende mit Watte fest umwickelt und in einen Glascylinder gesteckt, sodass der Wattepfropf mit dem durch ihn gehenden Thoncylinder fest im Glascylinder steckt und der Thoncylinder in letztern zum grössten Teil hineinragt. Von dem Glascylinder gehen seitlich 2 Glasröhren ab, von denen eine am freien Ende offen bezw. mit einem Wattepfropf versehen ist, die andere in eine leicht abzubrechende Spitze ausgezogen ist. Der so vorbereitete Filtrationsapparat wird bei 160° sterilisiert und unmittelbar nach dem Erkalten mit einer Kautschukkappe verschlossen, welche in der Mitte dem freien Ende des Thoncylinders entsprechend mit einem kleinen Loch versehen ist. Die offene, mit Wattepfropf versehene seitliche Glasröhre des Filtrationsapparates wird nun mit dem Bunsen'schen Aspirator in Verbindung gesetzt, die Pilzharnstofflösung eingefüllt und der Aspirator in Thätigkeit gesetzt. Bei gutem Schluss des Aspirators wird sofort die Kautschukkappe gegen den Wattepfropf fest angezogen und erscheint die Flüssigkeit in kleinsten thauartigen Tröpfchen auf der ganzen Aussenfläche des Thoncylinders.

Der Gang der mit solchen Filtrationsapparaten angestellten Versuche war folgender:

Nachdem in eine Harnstoffprobeflüssigkeit eine wirk-

same Pilzart mit den bekannten Kautelen eingebracht und nach einem Tag Verweilen derselben im Verdauungsschrank die Zersetzung des Harnstoffs, d. h. die ammoniakalische Reaktion deutlich ausgesprochen war, wurde die in Gährung begriffene Flüssigkeit in den sterilisierten Filtrationsapparat eingegossen und abgesaugt. Von dem nach circa 6 Stunden am Boden des Glascylinders sich ansammelnden wasserklaren Filtrat wurden durch die an der Spitze abgebrochene seitliche Glasröhre unter den nötigen Kautelen zwei Proben in zwei mit Nährgelatine beschickte sterilisierte Reagensgläser, weiterhin je circa 1 ccm in 2 sterilisierte (mit Nährsalzen versehene) Harnstoffprobeflüssigkeiten gebracht und letztere 60 Stunden lang bei einer Temperatur von 30^0—40^0 gehalten.

Die Prüfung der Flüssigkeiten ergab nun, nachdem sie 2—3 Tage im Verdauungsschrank geblieben waren, dass sie keine Spur von Ammoniak enthielten. Zur Vorsicht wurden davon noch 2 Proben auf Nährgelatine gebracht; dieselben entwickelten nach einer Woche keine Pilze, ebenso die oben genannten vom Filtrat stammenden Impfproben."

Diese Versuche wurden nun in ausgiebigster Weise wiederholt und führten nach fehlerfreier Ausbildung der Methode immer zu demselben Resultat.

Einem Einwand, der etwa noch gemacht werden könnte, nämlich dem, dass das von den Pilzen gelieferte Ferment im Thoncylinder stecken geblieben sei, begegnet Leube, indem er die Thatsache anführt, dass andere ungeformte Fermente ohne allen Anstand die Wand des Thoncylinders passieren.

Die Schlussfolgerungen Leube's seien wieder wörtlich hier angeführt:

„Nach alledem glaube ich das Resultat meiner Versuche über die Bildung eines ungeformten Ferments bei der harnstoffzersetzenden Thätigkeit der Pilze dahin zusammenfassen zu können, dass es nicht gelingt, ein ungeformtes, harnstoffzersetzendes Ferment von den die Harnstoffzerlegung bewirkenden Pilzen zu trennen. Und weiterhin glaube ich mich zu dem Schlusse berechtigt, dass die spezifische, freilich bis jetzt nicht näher definierbare Lebensthätigkeit verschiedener in Reinkultur gewinnbarer Pilze die Harnstoffzersetzung zustande bringt, nicht ein von denselben dabei geliefertes ungeformtes Ferment, welches unabhängig von ihnen weiterhin Harnstoff in kohlensaures Ammonium zu verwandeln vermöchte.

Damit soll nicht geleugnet werden, dass aus schleimhaltigem zersetzten Urin ein in Wasser lösliches Ferment gewonnen werden kann, wie dies thätsächlich Musculus seiner Zeit gelang. Nur ist es nach dem Resultat meiner Versuche nicht erlaubt, die Annahme zu machen, es handle sich in solchen Fällen um ein von den im zersetzten Urin vorfindlichen Pilzen geliefertes und von diesen abtrennbares Ferment, was bei der Erfahrung, dass in zersetztem Urin Pilze bis jetzt nie vermisst wurden, allerdings die nächstliegende Schlussfolgerung wäre. Thatsächlich ist das aber nicht der Fall. Findet sich also im schleimhaltigen zersetzten Urin neben den Pilzen ein sicher nachweisbares isolierbares, ungeformtes Ferment, so dürfte dieses nach Obigem folgerichtig eine andere Quelle haben, deren Auffindung die Aufgabe spezieller späterer Untersuchungen sein muss.“

An diesem Punkte setzen nun die in folgendem beschriebenen Untersuchungen an, welche mit gütiger Er-

laubnis des Herrn Professor Leube in dessen Laboratorium angestellt worden sind.

Nicht ohne Grund ist in der Einleitung so ausführlich, insbesondere auf die Wiedergabe der von Leube beschriebenen Methode zur Isolierung des Harnstoffferments aus zersetzter Harnstoffflüssigkeit eingegangen worden; denn im Prinzip ist bei dem Versuche der Isolierung eines Ferments aus schleimhaltigem zersetzten Urin die gleiche Methode in Anwendung gebracht worden.

Sie musste aber auch die gleiche bleiben, denn man hat nicht die Berechtigung anzunehmen, dass das von Pasteur und Musculus dargestellte und als Ferment angesprochene Pulver frei sei von Mikroorganismen. Teils können ihm solche noch anhaften, da es doch aus schleimigem zersetzten Urin gewonnen ist und es nur eine Alkoholbehandlung durchgemacht hat, teils kann aus der Luft eine Beimischung stattgefunden haben. Hat doch Leube aus der Luft Mikroorganismen isoliert, welche den Harnstoff in kürzester Zeit umzusetzen imstande sind.

Vor allem galt es natürlich, die Versuche von Musculus nachzumachen und zwar genau in der von ihm angegebenen Weise.

Was das Material anlangt, so wurde der Blaseninhalt von fünf an Cystitis erkrankten Personen benutzt; derselbe war schleimig und ammoniakalisch zersetzt, als er die Harnröhre verliess. Die Quantität war verschieden, je nachdem die beginnenden therapeutischen Eingriffe eine weitere Benützung inopportun erscheinen liessen; doch waren die Urinmengen in zwei Fällen so gross, dass 20 bezw. 30 Liter absoluten Alkohols zur Fällung notwendig waren; dabei muss bemerkt werden, dass manch-

mal, nachdem der Schleim in der Urinflüssigkeit sich zu Boden gesenkt, eine Quantität der überstehenden fast klaren Flüssigkeit abgegossen, d. h. nicht verwendet wurde, sodass ein recht dickflüssiger Urin zur Verfügung stand. Der Luft war freier Zutritt gestattet worden, bis die Zersetzung einen Grad erreicht hatte, der es gestattete, ohne weitere Hilfsmittel dieselbe zu konstatieren. Nichtsdestoweniger wurde selbstverständlich der chemische Nachweis von kohlensaurem Ammonium geliefert.

Auf den überhaupt etwa zu ermöglichenden Luftabschluss wurde verzichtet, um einem Einwand zu begegnen, der hätte gemacht werden können. Man hatte sagen können, die von Leube und andern isolierten Harnstoff zersetzenden Mikroorganismen sondern kein Ferment ab, aber wohl andere, welche bei den Versuchen, die oben beschrieben wurden, ausgeschaltet waren. Bei unserm Vorgehen enthielt der Urin eine Menge aller möglichen Mikroorganismen. Der Urin wurde nun mit absolutem Alkohol solange versetzt, bis in der durch ein Probefilter gegangenen Flüssigkeit eine weitere Fällung durch Alkohol nicht mehr erzielt wurde. Der so behandelte Urin wurde nun auf ein grosses Filter gebracht; der sich auf diesem Filter sammelnde Niederschlag wurde bei sehr gelinder Temperatur getrocknet und in ein luftdicht schliessendes Gefäss gethan. Nun wurde die Wirksamkeit des Pulvers

Gegenstand der Prüfung.

Zur Probe wurden drei Gläser in den Brutofen gebracht: das eine gefüllt mit einer Harnstofflösung (ohne Nährsalze), dargestellt aus ammoniakfreiem Harnstoff oder normalem Urin mit einer durch Essigsäure vorsichtig neutralisierten wässerigen Lösung des gewonnenen Pulvers; das andere gefüllt mit reiner Harnstofflösung bezw. nor-

malem Urin, das dritte endlich mit reiner wässeriger Lösung des Pulvers, die gleichfalls neutralisiert war.

Nach 4—6stündigem Aufenthalt im Verdauungsofen bei einer Temperatur von 38°—39° war die ammoniakalische Zersetzung in dem ersten Glas in vollstem Gange, keine Veränderungen dagegen in den Kontrolflüssigkeiten. Das Pulver entsprach demnach in seiner Wirkung der von Musculus dargestellten und von diesem als unorganisches Ferment bezeichneten Substanz.

Vielfache Versuche fielen immer in gleichem Sinne aus.

Die mikroskopische Untersuchung der Lösung des Pulvers und dieser selbst sowohl, wie die Impfung auf Gelatine ergaben aber die Anwesenheit von Mikroorganismen; welcher Art diese waren, ist nicht möglich, aber auch nicht notwendig zu konstatieren.

Nur auf die eine Thatsache sei hingewiesen, dass Musculus bei der Untersuchung des Pulvers zu dem Resultat kommt, dass keine Torulae (als sphärische Klümpchen von 0,0015 mm Durchmesser beschreibt er dieselben) vorhanden waren. Diese Torulae ausgenommen, erwähnt keiner der damaligen Untersucher irgend einen Mikroorganismus, sie konnten es nicht thun, da ja erst in späterer Zeit und zwar mit absoluter Sicherheit bei einzelnen Bacillen und Coccen die Eigenschaft, Harnstoff umzusetzen, gefunden und studiert wurde.

Dieser oben angeführte positive Befund in Bezug auf die Anwesenheit von Mikroorganismen der verschiedensten Art erlaubte es aber nun noch nicht, die etwa nebenbei noch existierende Anwesenheit eines unorganischen Fermentes zu leugnen.

Etwas zweifelhafter wurde die Sache schon, als durch die aus dem Pulver gewonnenen, das heisst auf Gelatine

gezüchteten Mikroorganismen eine Zersetzung des Harnstoffs erzielt werden konnte, demnach eine zufällige Beimischung etwa aus der Luft nicht gut angenommen werden konnte. Ein endgültiger Entscheid war aber erst nach der Filtrierprobe zu treffen.

Ich habe mir erlaubt, zwei Modifikationen der Leube'schen Isoliermethode anzuwenden. Die Harnstofflösung wurde nicht durch diskontinuierliche Erwärmung sterilisiert, sondern ebenfalls durch Filtration durch Thonzellen, eine Methode, die ihrem Zweck entspricht, wenn die Thoncylinder genügende Wanddicke besitzen bezw. durch Kontrolimpfungen die Bacterienlosigkeit des Filtrats noch besonders geprüft wird. Die zweite Änderung betrifft die Mischung der beiden Flüssigkeiten, der Harnstofflösung und der filtrierten Fermentpulverlösung.

Zwei der oben beschriebenen Leube'schen Filtrierapparate wurden zusammengestellt; beide waren in fester Verbindung mit einem dritten Glaskolben durch Glasröhren. Die Kontinuität der Röhren konnte durch Hahnenschluss unterbrochen werden (siehe Zeichnung). Der Glaskolben hatte ein Ausflussrohr mit Hahnenverschluss; ausserdem war die unterste Spitze zugeschmolzen. In der Mitte hatte der Kolben ein mit Watte verstopftes Saugrohr, um beim Abfüllen etwaige Druckdifferenzen der in dem Glaskolben beziehungsweise den Filtrierbechern enthaltenen Luft ausgleichen oder überwinden zu können.

Um jede Aspiration von Luft beim Absaugen absolut undenkbar zu machen, wurden die Hahnenlager noch mit einer Wachsschicht nach dem Sterilisationsakt bedeckt. Sind die Hahnen sorgfältig geschliffen, so ist diese Vorsicht nicht nötig.

Durch Öffnen der Hähnen konnte man nun beliebige Mengen der gewonnenen Nitrate zusammenströmen lassen, ohne daß die geringste Beimengung von Luftkeimen möglich war.

Die wässerige Lösung der als wirksam erkannten Nitrate, welche mit Essigsäure neutralisiert war, wurde nun, wie oben, 2—3 Stunden Wasserstoffleitung in dem vorher sterilisierten Apparate (s. o.) Thonzylinderapparat) unterworfen. Nachdem eine hinreichende bezw. gewisse eine dem vorhergegangenen Versuch entsprechend große Menge Nitrat war, wurde eine Mischung der Nitrate vorgenommen, zur Kontrole aber von jeder Flüssigkeit gesondert einen zurückgelassen. Der ganze Filtrierapparat an einem Stab befestigt kam in den Verdauungsschrank.

Nach achttägigem Verweilen daselbst bei einer Temperatur von 36—37° ergab die Prüfung der Mischung auf Ammoniak ein negatives Resultat. Eine Reihe weiterer gerade so ausgeführter Versuche bestätigten nur das erste Resultat. Die Kontrolflüssigkeiten waren selbstredend auch unverändert.

Wurde dagegen die Prüfung auf Zersetzung nach 36—40 h und nach längerer Zeit gemacht, so war fast immer eine bald weniger, bald mehr ausgesprochene Alkaleszenz zu konstatieren. Dieses Resultat war überraschend und wäre es schwer gewesen einen plausiblen Grund für die abgeschwächte Wirkung des etwa doch vorhandenen unorganischen Ferments zu finden. Ein mechanisches Hindernis ist in den Filtrieren durch Thonzylinder für eine wässerige Fermentlösung bekanntlich nicht gegeben.

Das Folgende wird nun zeigen, warum auf nähere Begründung hierfür verzichtet, dagegen ein anderer, be-

her nicht mit der nötigen Vorsicht behandelter Punkt in's Auge gefasst wurde.

Jedesmal nämlich vor Anstellung der Probe auf Zersetzung waren sterilisierte Gelatineröhrchen unter strengster Beobachtung aller Vorsichtsmassregeln mit einigen Tropfen der Mischung beschickt worden. Das Resultat der Impfung war dieses: In allen Fällen, in denen eine ammoniakalische Zersetzung nachzuweisen war, gingen Kulturen von Mikroorganismen an und diese zersetzten wiederum Urin oder Harnstoff. Allerdings wurde keine Trennung der verschiedenen Arten vorgenommen, was ja auch keine Forderung dieser Arbeit sein kann, noch in derem Plane liegt. Es genügte, die Anwesenheit von Harnstoff zersetzenden Mikroorganismen in denjenigen Fällen zu konstatieren, wo Alkalescenz nachzuweisen war, zumal bei einigen wenigen Versuchen, bei denen keine ammoniakalische Zersetzung eingetreten war, die bezügliche Kulturkontrole gleichfalls ein negatives Resultat ergab.

Jedoch war die Anzahl der letzteren Versuche zu klein, die Versuchsreihe im ganzen nicht exakt genug, um einen endgültigen Schluss ziehen zu lassen. Der Anordnungsfehler fand sich aber bald und zwar in der Dünnwandigkeit der zum Filtrieren benutzten Thoncylinder. Leube hatte Thoncylinder von viel grösserem Wanddurchmesser benutzt; deshalb vermisste er in seinem Filtrate konstant Mikroorganismen.

Als solche dicke Thoncylinder nun angewendet wurden, ergab sich eine Versuchsreihe, welche in ihrem Resultate, wenn anders die Prämissen als richtig anzunehmen sind, mit Evidenz die Frage nach einem unorganisierten beziehungsweise nach einem von Mikroorganismen trennbaren Ferment in negativem Sinn entscheidet. Es trat nämlich

in keinem der vielen Versuche eine ammoniakalische Zersetzung ein, aber auch die angestellten Gelatineimpfungen blieben resultatlos.

Auf ein mögliches Vorkommnis muss aufmerksam gemacht werden; beim Sterilisieren der Thoncylinder kommt es hier und da vor, dass der eine oder andere Cylinder einen kaum sichtbaren Sprung davonträgt, vielleicht schon hat, dann aber ihn erst sichtbar werden lässt. Dass dem Austritt von Mikroorganismen in einem solchen Falle wieder nichts entgegensteht, ist klar.

Es wäre interessant gewesen, unter vollständigem Ausschluss von O die Fermentwirkung der Mikroorganismen zu prüfen, zum Beispiel unter Quecksilber eine Mischung von Harnstofflösung und Fermentpulver einige Zeit zusammenzubringen. Der exakten Ausführung stehen aber unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen, da, um allen O aus den Flüssigkeiten selbst zu entfernen, dieselben erst hätten gekocht werden müssen, was mit Zerstörung der Mikroorganismen, bezw. des Ferments und möglicherweise auch der Harnstofflösung gleichbedeutend gewesen wäre. Es sei hier nur angeführt, dass ein solcher Versuch, ohne vorher zu kochen, vorgenommen wurde; es ergab sich eine Abweichung von den früheren Resultaten im Sinne einer Verlangsamung der Umsetzung.

Soweit die eigenen Versuche.

Es darf nicht unerwähnt bleiben, dass im Jahre 1885 von einem Engländer[1]) ähnliche Versuche, wie die oben beschriebenen, nämlich eine Filtration von schleimhaltigem ammoniakalischen Urin durch viele Papierfilter und durch

[1]) A. Sheridan Lea, Cambridge Journal of Physiology by Foster. 1885. Einige Bemerkungen über die Isolierung eines löslichen Harnstoff-Ferments aus der Torula ureae.

Thonzellen vorgenommen wurden. In einem wesentlichen Punkte unterscheiden sich die Versuche. Lea filtrierte immer bloss Teile des schleimigen Urins, nie aber eine wässerige Lösung des auch von ihm nach der Methode Musculus dargestellten Pulvers.

Auf Grund welcher Versuche und Erwägung Lea nun doch zu dem Schlusse kommt, dass ein unorganisiertes Ferment sich aus schleimigem Urin darstellen lasse, sei in folgendem kurz dargestellt.

Vor allem sei bemerkt, dass Lea die von Leube, Cohn und Anderen entdeckten Coccen und Bacillen nicht kennt oder nicht anerkennt. Er redet immer nur, gleich Musculus, der anfangs der 70er Jahre arbeitete, von einer Torula ureae.

Davon, dass er diese „Torula ureae" isoliert und ihre Eigenschaft, den Harnstoff zu zersetzen, konstatiert habe, war nichts in seiner Abhandlung zu finden.

Lea machte die Versuche von Musculus nach. konnte sie bestätigen und zwar thut er es mit den Worten:

„Wenn das mit dem Ferment imprägnierte Papier (er meint das von Musculus dargestellte Reagenspapier) seine Eigenschaft beim Behandeln mit Alkohol nicht verliert, der die Lebensfähigkeit jedes organischen Wesens zerstört, so muss irgend ein unorganisiertes Ferment dem Papier anhängen." Dieser Satz lässt sich mit den durch die bakteriologischen Untersuchungen festgestellten Thatsachen nicht in Einklang bringen und doch ist dieser Glaube an die Zerstörbarkeit alles lebenden Wesens durch Alkohol für Lea massgebend gewesen bei der Erklärung der von ihm angestellten Experimente, bezw. deren Resultate.

Lea filtrierte schleimigen zersetzten Urin, um den etwas dicken Niederschlag von den Salzen zu reinigen,

welche in grossen Mengen vorhanden seien, und in der Annahme, dass das Ferment, da es löslich ist, in der überstehenden Flüssigkeit sich befinde. Dann versetzte er das Filtrat mit Alkohol. Der so erhaltene Niederschlag brachte zu seiner Überraschung keine Gährwirkung zustande.

Ebenso erging es Lea, als er neutralisierten zersetzten Urin durch fünfzehn Papierfilter oder Thonzellen filtrierte und den filtrierten Urin mit Harnstofflösung zusammenbrachte oder mit Alkohol das gewonnene Filtrat fällte und mit diesem die gleichen Versuche anstellte.

„So misslang", schreibt Lea, „es mir gänzlich, irgend ein Ferment aus der die Organismen umgebenden Flüssigkeit zu isolieren, obgleich ich es immer aus dem Rückstand erhielt, in welchem die Organismen selbst vorhanden sind.

Die Zellen bringen keine Gährung hervor durch Ausscheiden des Ferments in die umgebende Flüssigkeit; das Ferment, welche Rolle es auch spielen mag bei dem Prozess, scheint in den Zellen zurückgehalten zu werden, obgleich es aus den Zellen ausgeschieden werden kann, nachdem dieselben durch Alkohol getötet worden sind."

Auf solch gezwungene Erklärungen war Lea angewiesen infolge der von ihm gemachten aber nicht anzuerkennenden Voraussetzungen.

Lässt man diese Voraussetzungen fallen, so kann man die Arbeit Lea's benützen und mit ihr das Gegenteil der Ansicht wenigstens stützen, welche Lea selbst hat bezüglich der Anwesenheit eines trennbaren löslichen Ferments.

Die Mikroorganismen in ammoniakalisch zersetztem Urin werden von dem zu Boden sich senkenden Schleim, den Kolloidsubstanzen mitgerissen.

Benutzt man nun die überstehende Flüssigkeit zum

Versuch, so ist die in dem Niederschlag (durch Fällung mit Alkohol) aufgefangene Menge der Mikroorganismen bezw. Sporen eine zu geringe, als dass sie in so kurzer Zeit ihre zersetzende Thätigkeit zu sichtbarer Wirkung bringen könnten.

In gleicher Weise werden bei der Filtration die Mikroben zum grössten Teil samt dem Schleim in und über dem Papier, beziehungsweise in den Thonzellen zurückgehalten. Nicht alle selbstverständlich bei einfachem Filter. Auch Lea führt an, dass in einigen Fällen, wo während der ganzen Nacht durch einfachen Filter gegangener Urin mit Harnstofflösung und filtrierter Urin allein im Wasserbad gelassen worden war, am nächsten Morgen eine schwache Alkalescenz nachzuweisen war. Nur wenn er durch fünfzehn Papierfilter oder durch Thonzellen filtrierte, bekam er auch bei fortgesetzter Digestion von 38° absolut keine Zersetzung.

Keineswegs soll übrigens geleugnet werden, dass vorstehende Methode zur Isolierung eines Ferments, wie Lea sie anwendet, überhaupt mangelhaft ist; denn es ist die Ansicht, dass mit dem Schleim und den Mikroorganismen auch ein etwa vorhandenes amorphes Ferment zurückgehalten wird bei der Filtration, nicht so ohne weiteres von der Hand zu weisen. Einen hohen Grad von Wahrscheinlichkeit kann man allerdings dieser Möglichkeit nicht beimessen.

Anders verhält sich die Sache bei der Filtration einer wässerigen Lösung des sogenannten Fermentpulvers.

Fassen wir zum Schluss noch einmal kurz die Thatsachen zusammen, welche gegen das Vorhandensein oder wenigstens gegen die Notwendigkeit der Annahme eines amorphen harnstoffzersetzenden Fermentes sprechen:

In ammoniakalisch zersetztem Urin werden Mikroorganismen nie vermisst.

Das von Musculus dargestellte Fermentpulver enthält gleichfalls Mikroorganismen trotz der Behandlung mit Alkohol und zwar solche, welche den Harnstoff zersetzen.

Experimentelle Untersuchungen zur Trennung eines vielleicht neben diesen Organismen vorhandenen, beziehungsweise von denselben producierten Ferments sind negativ ausgefallen, sowohl bei Benutzung von Harnstofflösung, welche durch speciell untersuchte Mikroorganismen zersetzt war, als auch bei schleimigem zersetztem Urin, der einer katarrhalisch erkrankten Blase entnommen war und in dieser schon die charakteristischen Symptome der ammoniakalischen Zersetzung zeigte.

Man ist demnach durch nichts gezwungen, angesichts der Thatsachen, welche auf dem Wege des Experimentes festgestellt sind, ein unorganisiertes Ferment anzunehmen und auch die Erfahrung am Krankenbett muss in gleichem Sinne entscheiden.

In all' denjenigen Fällen, wo man eine spontane Zersetzung des Urins in der Blase anfangs angenommen und dieselbe als die Folge einer Fermentwirkung betrachtet hatte, in all' diesen Fällen hat die genauere, kritische Untersuchung die Anwesenheit von Mikroorganismen festgestellt oder wenigstens dargethan, dass die Möglichkeit der Anwesenheit von Mikroorganismen nicht ausgeschlossen war.

Zum Schluss sei es mir gestattet, Herrn Professor Leube den ergebensten Dank auszusprechen für Ueberlassung der Arbeit, sowie für die massgebende Teilnahme und Unterstützung, die mir von Seite des hochverehrten Lehrers während derselben zugewendet wurde.